

**KINETIKA PERTUMBUHAN DAN AKTIVITAS ENZIM
PROTEASE BAKTERI LIMBAH TAMBAK UDANG SEBAGAI
KANDIDAT AGEN BIOREMEDIASI**

SKRIPSI

DEVI OKTAVIA ANJANI

26040120140116



**PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2024**

**KINETIKA PERTUMBUHAN DAN AKTIVITAS ENZIM
PROTEASE BAKTERI LIMBAH TAMBAK UDANG SEBAGAI
KANDIDAT AGEN BIOREMEDIASI**

**DEVI OKTAVIA ANJANI
26040120140116**

Skripsi sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Derajat Sarjana S1 pada Departemen Ilmu Kelautan
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Diponegoro

**PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2024**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : Kinetika Pertumbuhan dan Aktivitas Enzim
Protease Bakteri Limbah Tambak Udang
Sebagai Kandidat Agen Bioremediasi

Nama Mahasiswa : Devi Oktavia Anjani

NIM : 26040120140116

Departemen/Program Studi : Ilmu Kelautan/Ilmu Kelautan

Mengesahkan,

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota



Dr. Dra. Wilis Ari Setyati, M.Si.
NIP. 196511101993032001



Prof. Dr. Ir. Delianis Pringgenies, M.Sc.
NIP. 195810071987032001

Dekan

Ketua

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Diponegoro

Program Studi Ilmu Kelautan
Departemen Ilmu Kelautan



Prof. Ir. Ari Winarni Agustini, M.Sc., Ph.D.
NIP. 196508211990012001



Dr. Ir. Chrisna Adhi Suryono, M.Phil
NIP. 196406051991031004

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : Kinetika Pertumbuhan dan Aktivitas Enzim
Protease Bakteri Limbah Tambak Udang
Sebagai Kandidat Agen Bioremediasi

Nama Mahasiswa : Devi Oktavia Anjani

NIM : 26040120140116

Departemen/Program Studi : Ilmu Kelautan/Ilmu Kelautan

Skripsi ini telah disidangkan di hadapan Tim Penguji pada:

Hari/Tanggal : Rabu, 23 Januari 2024

Tempat : Ruang E.103 Gedung E Fakultas Perikanan dan
Ilmu Kelautan

Penguji Utama



Dra. Rini Pramesti, M.Si.
NIP. 196312231990032002

Penguji Anggota



Dr. Ir. Sunaryo
NIP. 196011151988031002

Pembimbing Utama



Dr. Dra. Wilis Ari Setyati, M.Si.
NIP. 196511101993032001

Pembimbing Anggota



Prof. Dr. Ir. Delianis Pringgenies, M.Sc.
NIP. 195810071987032001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Dengan ini saya, Devi Oktavia Anjani, menyatakan bahwa karya ilmiah/skripsi yang berjudul Kinetika Pertumbuhan dan Aktivitas Enzim Protease Bakteri Limbah Tambak Udang Sebagai Kandidat Agen Bioremediasi adalah asli karya saya sendiri dan belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Diponegoro maupun perguruan tinggi lainnya.

Semua informasi yang dimuat dalam karya ilmiah/skripsi ini yang berasal dari karya orang lain, baik yang dipublikasikan atau tidak, telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar dan semua isi dari karya ilmiah/skrpsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab penulis.

Semarang, 4 Januari 2024

Penulis



Devi Oktavia Anjani

26040120140116

ABSTRAK

(**Devi Oktavia Anjani. 26040120140116.** Kinetika Pertumbuhan Dan Aktivitas Enzim Protease Bakteri Limbah Tambak Udang Sebagai Kandidat Agen Bioremediasi. **Wilis Ari Setyati dan Delianis Pringgenies**).

Limbah yang dihasilkan dari proses budidaya mampu mencemari lingkungan sekitar lokasi tambak, yaitu berupa pakan yang tidak tercerna, sisa pencernaan udang, kulit udang, dan produk metabolit udang. Limbah tersebut dinilai potensial untuk dimanfaatkan kembali karena mengandung banyak bakteri pengurai. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kinetika pertumbuhan dan aktivitas enzim protease dari bakteri limbah tambak udang sebagai agen bioremediasi potensial. Sampel air diambil dari IPAL tambak udang Universitas Diponegoro Jepara. Metode yang digunakan meliputi isolasi bakteri, skrining aktivitas proteolitik, pengamatan kinetika pertumbuhan bakteri, pengamatan aktivitas enzim protease bakteri, pengukuran kadar protein, dan identifikasi molekuler bakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat bakteri dari air IPAL tambak udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) memiliki aktivitas enzim proteolitik. Hasil uji enzim proteolitik menunjukkan bahwa sejumlah isolat, termasuk IT.2, IC.1, IT.1, IT.9, IC.8, dan IC.5, mampu menghasilkan enzim proteolitik dengan aktivitas yang bervariasi, dari kategori sedang ($1 < IP \leq 3$) hingga tinggi ($IP > 3$). Kinetika pertumbuhan bakteri pada isolat bakteri limbah tambak udang terdiri dari fase logaritmik, fase stasioner, dan fase kematian. Dua isolat yang menunjukkan aktivitas enzim proteolitik tertinggi adalah IT.2 dan IC.1. Isolat IT.2 teridentifikasi sebagai bakteri *Vibrio fluvialis* dengan unit aktivitas enzim protease tertinggi mencapai 40,92 U/mL. Sementara itu, isolat IC.1 teridentifikasi sebagai *Pseudoalteromonas piscicida* dengan unit aktivitas enzim protease tertinggi mencapai 39,65 U/mL. Hasil penelitian ini menunjukkan potensi isolat bakteri limbah tambak udang sebagai agen bioremediasi potensial untuk mengurangi polusi limbah tambak udang.

Kata kunci: Agen bioremediasi, bakteri, enzim protease, kinetika pertumbuhan

ABSTRACT

(Devi Oktavia Anjani. 26040120140116. Growth Kinetics and Protease Enzyme Activity of Shrimp Pond Waste Bacteria as Potential Bioremediation Agents. Wilis Ari Setyati and Delianis Pringgenies).

*The waste generated from aquaculture processes has the potential to pollute the surrounding environment of shrimp pond locations. This waste includes unutilized feed, shrimp digestive residues, shrimp shells, and shrimp metabolite products. The waste is considered to be potentially reusable because it contains numerous decomposing bacteria. This study aims to evaluate the growth kinetics and protease enzyme activities of bacteria in shrimp pond waste as potential bioremediation agents. Water samples were taken from the wastewater treatment facility (IPAL) of the shrimp pond at Diponegoro University, Jepara. The methods employed include bacterial isolation, screening for proteolytic activities, observation of bacterial growth kinetics, observation of bacterial protease enzyme activities, measurement of protein levels, and bacterial molecular identification. The research results indicate that bacterial isolates from the wastewater treatment facility of vannamei shrimp ponds (*Litopenaeus vannamei*) exhibit proteolytic enzyme activities. The proteolytic enzyme test results show that several isolates, including IT.2, IC.1, IT.1, IT.9, IC.8, and IC.5, can produce proteolytic enzymes with varying activities, ranging from moderate ($1 < IP \leq 3$) to high ($IP > 3$). Bacterial growth kinetics on shrimp pond waste bacterial isolates consist of logarithmic, stationary, and death phases. Two isolates showing the highest proteolytic enzyme activities are IT.2 and IC.1. Isolate IT.2 is identified as *Vibrio fluvialis*, with the highest protease enzyme activity unit reaching 40.92 U/mL. Meanwhile, isolate IC.1 is identified as *Pseudoalteromonas piscicida*, with the highest protease enzyme activity unit reaching 39.65 U/mL. The research results indicate the potential of shrimp pond waste bacterial isolates as potential bioremediation agents to reduce shrimp pond waste pollution.*

Keywords: *Bacteria, bioremediation agent, growth kinetic, protease enzyme*

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT. atas rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian tugas akhir (Skripsi) dengan judul “Kinetika Pertumbuhan dan Aktivitas Enzim Protease Bakteri Limbah Tambak Udang Sebagai Kandidat Agen Bioremediasi” sebagai pemenuhan syarat untuk memperoleh gelar strata 1 atau sarjana (S1) di Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro. Penulis menyadari bahwa kelancaran penyusunan skripsi ini tidak lepas oleh dukungan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua penulis selaku keluarga yang selalu mendukung dan memfasilitasi penulis selama penyusunan skripsi.
2. Dr. Dra. Wilis Ari Setyati, M.Si. selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, arahan, kritik, dan saran selama penyusunan skripsi.
3. Prof. Dr. Ir. Delianis Pringgenies, M.Sc. selaku dosen pembimbing anggota yang juga telah memberikan bimbingan, arahan, kritik, dan saran selama penyusunan skripsi.
4. Ir. Agus Indardjo, M.Phil. selaku dosen wali/pembimbing akademik yang telah mendukung dan memberikan arahan selama masa perkuliahan.
5. Seluruh pihak yang telah membantu dan memberikan saran, baik langsung maupun tidak langsung selama penelitian dan penyusunan tugas akhir.

Penulis menyadari bahwa penyusunan tugas akhir (Skripsi) ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran perbaikan sangat diharapkan demi memaksimalkan penulisan tugas akhir ini. Semoga karya tulis ini dapat diterima dan dapat bermanfaat sebagai mestinya terutama dalam perkembangan ilmu pengetahuan.

Semarang, 5 – 01 – 2024

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH	v
ABSTRAK	vi
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Manfaat Penelitian	4
1.5. Tempat dan Waktu.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Limbah Tambak Udang.....	5
2.2. Bakteri.....	6
2.2.1. Kinetika Pertumbuhan Bakteri.....	6
2.2.2. Metabolisme Bakteri.....	8
2.2.3. Potensi Bakteri Limbah.....	9
2.3. Enzim	10
2.3.1. Enzim Protease.....	11
2.3.2. Mekanisme Enzim Protease	12
2.4. Bioremediasi	13
3. MATERI DAN METODE	15
3.1. Materi Penelitian	15
3.1.1. Alat Penelitian	15
3.1.2. Bahan Penelitian	16
3.2. Diagram Alir Penelitian	17
3.3. Metode Penelitian	18
3.3.1. Pengambilan Sampel.....	18
3.3.2. Bakteri Air Limbah Tambak Udang.....	19
3.3.2.1. Preparasi Sampel.....	19
3.3.2.2. Pembuatan Media Zobell Marine Agar	19
3.3.2.3. Isolasi Bakteri	20
3.3.2.4. Pemurnian Isolat Bakteri.....	20
3.3.2.5. Karakterisasi Morfologi	20

3.3.3. Skrining Aktivitas Proteolitik	20
3.3.4. Kinetika Pertumbuhan Bakteri.....	21
3.3.4.1. Pembuatan Standar Mc Farland	21
3.3.4.2. Pembuatan Isolat Starter	22
3.3.4.3. Pengukuran Pertumbuhan Bakteri	22
3.3.5. Uji Aktivitas Enzim Protease	23
3.3.5.1. Pembuatan Standar Tirosin	23
3.3.5.2. Pengukuran Aktivitas Enzim Protease	23
3.3.6. Uji Kadar Protein	24
3.3.6.1. Pembuatan Standard BSA.....	24
3.3.6.2. Pengukuran Kadar Protein	25
3.3.7. Identifikasi Molekuler.....	25
3.3.7.1. Ekstraksi DNA	25
3.3.7.2. Polymerase Chain Reaction (PCR).....	26
3.3.7.3. Elektroforesis	26
3.3.7.4. Sekuensing	27
3.3.8. Analisis Data	27
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	28
4.1. Hasil	28
4.1.1. Gambaran Lokasi Penelitian	28
4.1.2. Karakterisasi Bakteri.....	28
4.1.3. Skrining Aktivitas Enzim Proteolitik	29
4.1.4. Kinetika Pertumbuhan Bakteri.....	30
4.1.5. Aktivitas Enzim Protease	31
4.1.6. Kadar Protein	33
4.1.7. Identifikasi Bakteri.....	34
4.2.1. Lokasi Pengambilan Sampel.....	35
4.2.2. Karakterisasi Bakteri.....	36
4.2.3. Aktivitas Enzim Proteolitik.....	37
4.2.4. Kinetika Pertumbuhan Bakteri.....	39
4.2.5. Produksi Enzim Protease	41
4.2.5. Kadar Protein	44
4.2.6. Identifikasi Bakteri.....	45
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	Error! Bookmark not defined.
5.1. Kesimpulan	47
5.2. Saran	47

DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN.....	55

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Potensi Bakteri Asal Limbah dari Berbagai Studi	9
Tabel 3.1. Alat yang Digunakan dalam Penelitian	15
Tabel 3.2. Bahan yang Digunakan dalam Penelitian	16
Tabel 3.3. Formulasi Standar McFarland	21
Tabel 3.4. Formulasi Standar Tirosin	23
Tabel 3.5. Formulasi Standar BSA	25
Tabel 3.6. Formulasi Cocktail PCR.....	26
Tabel 3.7. Pengaturan Thermal Cycle	26
Tabel 4.1. Parameter Kualitas Air bak IPAL	28
Tabel 4.2. Karakterisasi Isolat Bakteri Limbah Tambak Udang.....	28
Tabel 4.3. Zona Bening & Indeks Proteolitik Isolat Limbah Air Tambak Udang	30
Tabel 4.4. Kinetika Pertumbuhan Isolat IT.2 dan IC.1	30
Tabel 4.5. Aktivitas Enzim Protease oleh Isolat IT.2 Selama Penelitian.....	32
Tabel 4.6. Aktivitas Enzim Protease oleh Isolat IC.1 Selama Penelitian	32
Tabel 4.7. Kadar Protein Media Kultur Isolat IT.2.....	33
Tabel 4.8. Kadar Protein Media Kultur Isolat IC.1	33
Tabel 4.9. Hasil Identifikasi BLAST Spesies Isolat IT.2 dan IC.1	34

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Kurva Sigmoid Pertumbuhan Bakteri.....	7
Gambar 2.2. Klasifikasi Enzim Protease	12
Gambar 3.1. Diagram Alir Penelitian	18
Gambar 3.2. Peta Lokasi Pengambilan Sampel.....	19
Gambar 4.1. Grafik Kinetika Pertumbuhan Isolat IT.2 dan IC.1.....	31
Gambar 4.2. Grafik Aktivitas Enzim Protease oleh Isolat IT.2 dan IC.1	32
Gambar 4.3. Grafik Hidrolisis Protein oleh Isolat IT.2 dan IC.1	34
Gambar 4.4. Hasil Elektroforesis Sampel PCR Isolat IT.2 dan IC.1.....	34
Gambar 4.5. Konstruksi Pohon Filogenetik	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi Kegiatan	56
Lampiran 2. Standar McFarland.....	57
Lampiran 3. Standar Tirosin.....	58
Lampiran 4. Standar BSA (<i>Bovine Serum Albumine</i>)	59
Lampiran 5. Pengolahan Data Hasil Uji Enzim Proteolitik	60
Lampiran 6. Pengolahan Data Kinetika Pertumbuhan Bakteri	61
Lampiran 7. Pengolahan Data Aktivitas Enzim Protease.....	62
Lampiran 8. Pengolahan Data Kadar Protein.....	64